Über den enzymatischen Abbau des Histamins

Verkürzte Fassung der

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät der Universität Basel

von

Dr. med. Ernst Albert Zeller
aus Basel und Ziefen (Baselland)

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.
1937

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546702_0106

Über den enzymatischen Abbau des Histamins

Verkürzte Fassung der

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät der Universität Basel

von

Dr. med. Ernst Albert Zeller
aus Basel und Ziefen (Baselland)

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.
1937

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *S. Edlbacher* und Dr. *H. Rupe*.

Basel, den 22. Juni 1937.

Prof. Dr. *H. Zickendraht*,
Dekan.

Herrn Dr. med. *Ernst Albert Zeller* wurde von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät der Universität Basel am 22. Juni 1937 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner Inaugural-Dissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

„*Über den Chemismus des Arginin- und Histamin-Stoffwechsels*"

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Physiologisch-Chemischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen XX, Fasciculus Quartus, 1937.

Über den enzymatischen Abbau des Histamins.

Seit 1913[1]) kennt man eine ganze Reihe von Beobachtungen, die darauf schliessen lassen, dass im tierischen Organismus ein Histamin inaktivierendes Prinzip vorhanden sei. Man konnte zeigen, dass Tiere, welchen man Histamin injizierte oder verfütterte, unter geeigneten Bedingungen ein Mehrfaches der letalen Dosis anstandslos ertrugen[2]).

Best[3]) entdeckte nun 1929 ein Histamin abbauendes Enzym, das er Histaminase nannte, und das er insbesondere in der Darmschleimhaut und in der Niere vorfand. In seinem Institut wurden die Eigenschaften des neuen Ferments eingehend studiert[4]). Es stellte sich heraus, dass die Histaminase-Spaltung eine oxydative Desaminierung sei: es wird pro Molekel Histamin eine Molekel Ammoniak frei, und es ist für die Tätigkeit des Enzyms die Gegenwart von Sauerstoff nötig.

Der eine von uns *(E.)* fand in der Säugerleber ein Enzym, die Histidase[5]), die Histidin abbaut. Es interessierte uns deshalb sehr, ob die Histaminase-Spaltung einen ähnlichen Verlauf nähme, umso mehr als bisher ausser Ammoniak kein definiertes Reaktionsprodukt aufgefunden wurde, z. B. auch nicht die in Analogie zum Abbau anderer biogener Amine zu erwartende Imidazol-essigsäure[6]).

In den ersten Versuchen wurde die Wirkung der Histaminase an der Abnahme des Histamins, gemessen am überlebenden Meerschweinchendarm, ermittelt, während *Best* in ähnlicher Versuchsanordnung die Wirkung des Histamins auf den Blutdruck der narkotisierten Katze untersuchte.

Später wandten wir ausschliesslich ein Verfahren an, das auf der von *Mc Henry* und *Gavin* (l. c.) festgestellten und von uns bestätigten Tatsache beruht, dass pro Äquivalent Histamin ein Äquivalent Ammoniak gebildet wird. Die Bestimmung geschieht folgendermassen: Das zu untersuchende Präparat wird in einer *Folin*-Röhre in 25 cm³ *Sörensen*-Phosphatpuffer vom $p_H = 7{,}0$ suspendiert, mit einem cm³ einer 0,1-mol. Histaminlösung versetzt und unter Durch-

[1]) *Oehme*, Arch. exp. Path. Pharmakol. **72**, 76 (1913).
[2]) Zusammenfass. Lit. in Erg. Physiol. **30**, 153 (1930).
[3]) J. Physiol. **67**, 256 (1929); **70**, 349 (1930).
[4]) *E. W. Mc Henry, Gavin*, Biochem. J. **26**, 1365 (1932); **29**, 622 (1935).
[5]) Z. physiol. Ch. **224**, 262 (1934).
[6]) *M. Guggenheim* und *W. Löffler*, Bioch. Z. **72**, 303 (1915).

leiten von gewaschener Luft 24 Stunden bei 38° bebrütet. Das gebildete Ammoniak wird nach *Folin* bestimmt und ist ein gutes Mass für die vorhandene Enzymmenge. Parallel zu jeder Bestimmung wurden Minuskontrollen angesetzt, um die unabhängig von der Histaminase-Spaltung entstandene Ammoniakmenge zu bestimmen. Für diese Art der Messung der Fermentmenge oder des Aktivierungsgrades gelten dieselben Einwände, die *Leuthardt* und *Koller*[1]) für ihre Arginasestudien angeführt haben: Zu einem einwandfreien Vergleich müsste die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion herbeigezogen werden, was aber auch in diesem Fall wegen der unübersichtlichen Kompliziertheit des Systems vorläufig gar nicht möglich ist. Für den rein praktischen Gebrauch aber hat sich unser Verfahren bei Innehaltung der gleichen Bedingungen gut bewährt.

Vorkommen der Histaminase.

Es wurden Leber, Niere, Darm, Milz und Nebenniere verschiedener Tiere auf ihren Histaminasegehalt hin mittels der Darmmethode untersucht. Nebennierenmark liess sich auf diese Weise nicht prüfen, weil sein Extrakt wegen des Adrenalingehaltes den Darm lähmte. Die Wirksamkeit dieses Organs wurde deshalb mit Hilfe der Ammoniakbildung gemessen. Teilweise wurden die Organe in feine Schnitte zerlegt und in Phosphatpuffer suspendiert, teilweise wurden sie mit Quarzsand zerrieben, mit Phosphatpuffer oder Glycerin extrahiert und koliert, oder man stellte durch Extraktion der mit *Latapie*-Apparat zerkleinerten Organe mit Aceton ein Trockenpulver her, das mit Phosphatpuffer extrahiert wurde. Es wurde jedesmal die Wirkung der Organextrakte allein auf den Meerschweinchendarm untersucht; mit Ausnahme des eben erwähnten Nebennierenmarks beeinflusste kein Organextrakt den Darm. Die verschiedenen aufgezählten Verfahren gaben im allgemeinen übereinstimmende Resultate, die in der folgenden Tabelle summarisch zusammengestellt sind.

	Niere	Darm	Leber	Milz	Nebenniere Rinde	Lunge
Ratte	−	+[2])	−	−		−
Meerschweinchen	+	+	+	−		−
Rind	+		+		−	
Hund			+			
Katze	+		+			
Schwein	+		−			−
Huhn	−	+	+	−		−
Mensch					+	

[1]) Helv. **17**, 1032 (1934).

[2]) Ausführliche Untersuchungen über das Vorkommen des Enzyms im Rattendarm sind gegenwärtig im Gange.

Im Darm fand sich bei allen untersuchten Tieren Histaminase, ebenfalls in der Niere, mit Ausnahme von Ratte und Huhn. Bei der getrennten Untersuchung von Rinde und Mark wies das letztere gewöhnlich sehr viel weniger Histaminase auf. Die Leber reagierte in einzelnen Fällen positiv. Als reichste Quelle erwies sich die Nierenrinde vom Schwein. Gewöhnlich wurden 20 Nieren von Fett und Mark befreit, durch den *Latapie*-Apparat getrieben und mehrmals mit Aceton geschüttelt, filtriert und an der Luft getrocknet. Man erhält so ein sehr haltbares und bequemes Ausgangspräparat.

Der Einfluss verschiedener Körper auf die Spaltung.

Best und *Mc Henry* (l. c.) fanden, dass Histaminase Sauerstoff benötigt und durch Blausäure gehemmt wird. Es war nun von grossem Interesse zu erfahren, wie sich das Enzym gegenüber Kohlenoxyd verhalte, und es zeigte sich, dass dieses Gas keinen hemmenden Einfluss ausübt, auch nicht bei Zuführung eines Gemisches von 40% Kohlenoxyd und 60% Sauerstoff und auch nicht in der Dunkelheit (um eine Dissoziation einer eventuellen Ferment-Kohlenoxyd-Bindung zu vermeiden). Nach diesen Ergebnissen darf man wohl annehmen, dass die Histaminase in die Reihe der Häminfermente gehört. Ähnlich gegen Kohlenoxyd und Blausäure reagieren z. B. die Peroxydasen, deren Hämincharakter gesichert ist[1]).

Es wurde die Wirkung einer Reihe von Körpern, von denen wir aus den umfangreichen Arbeiten unseres Instituts über Arginase[2]) wussten, dass sie einen aktivierenden Einfluss auf die Arginase ausübten, auf die Histaminase untersucht. Bei Manganionen und Eisenionen stellten wir eine geringe, aber deutliche Hemmung fest. Blausäure hemmt also nicht deshalb die Reaktion so stark, weil sie anorganisches Eisen entionisiert. Das ging schon aus der von *Best* und *Mc Henry* (l. c.) gemachten Beobachtung hervor, dass die Spaltung durch Natriumpyrophosphat nicht gehemmt wird. Auch Cystein hemmt deutlich, während Ascorbinsäure nur in grösseren Konzentrationen eine ganz geringfügige Hemmung ausübt. Bei den Ansätzen mit Ascorbinsäure beobachteten wir das Auftreten einer starken braunen Farbe, wenn die Proben nach der Bebrütung zwecks Inaktivierung erhitzt wurden. Arginase und Histaminase verhalten sich also den aufgezählten Körpern gegenüber gerade entgegengesetzt. Weiterhin wurde der Einfluss von Arsentrioxyd, Arsenpentoxyd, Methylenblau und Pyridin studiert: Die ersten beiden waren ohne Einfluss, die letztern hemmten schon bei sehr geringen Dosen.

Edlbacher und *Kraus*[3]) fanden, dass Brenzcatechin und Adrenalin bei Anwesenheit von Sauerstoff Glykokoll unter Bildung von Am-

[1]) *R. Kuhn, D. B. Hand, M. Florki*, Z. physiol. Ch. **201**, 255 (1931).
[2]) Z. physiol. Ch. **206**, 65 (1932); **206**, 78 (1932); **242**, 253 (1936); **245**, 65 (1936).
[3]) Z. physiol. Ch. **178**, 239 (1928).

moniak und Kohlendioxyd zerlegen können. Bei der Histaminspaltung aber erwiesen sich beide Körper als inaktiv. Ein merkwürdiger Zusammenhang zwischen dieser Reaktion und der Oxydation des Dioxy-phenylalanins, eines weiteren Brenzcatechin-Derivates, wird im Abschnitt über Pigmentbildung erwähnt werden.

Adsorptionsversuche.

Für diese Versuche gingen wir stets von dem oben erwähnten Nierentrockenpulver aus. Nachdem wir zuerst einen Extrakt mit Phosphatpuffer verwendet hatten, benützten wir nachher 5-proz. Kochsalzlösung, die mehr Histaminase, aber sehr viel weniger Begleitstoffe extrahiert.

Die Histaminase wird aus einem solchen Extrakt in grösserem Ausmasse an Kaolin, Fullererde, Frankonit, Tierkohle und Aluminiumhydroxyd (Cγ) adsorbiert. Das Enzym zeigt dabei die für die Untersuchung günstige Eigenschaft, dass es im adsorbierten Zustand voll aktiv bleibt. Noch nicht aufgeklärt ist die interessante Tatsache, dass nach Behandlung des Extraktes mit einer kleinen Menge Adsorbens die Aktivität des Extraktes erhöht ist. Besonders günstig für eine Reinigung erwiesen sich Kaolin und Fullererde, die deshalb besonders ausführlich untersucht wurden.

Bei geeigneten Mengenverhältnissen kann man aus einem Phosphatpufferextrakt von p_H 7,0 eine völlige Adsorption der Histaminase an Koalin erzielen, bei leicht alkalischer Reaktion kann sie auch teilweise wieder eluiert werden. Ein Maximum von 45% erzielten wir beim p_H von 9,2. Es ist gelungen eine wiederholte Adsorption und Elution durchzuführen.

Noch besser als Kaolin adsorbiert Fullererde und Bleicherde *(Merck)*, besonders gut aus dem Kochsalzextrakt. Die Bindung des Ferments an das Adsorbens ist so stark, dass man das Adsorbat über Nacht mit destilliertem Wasser schütteln und auf diese Weise gründlich reinigen kann, ohne dass es an Aktivität einbüsst. Eine Eluierung ist überhaupt noch nie beobachtet worden. Das so gewaschene Präparat kann nun entweder in Phosphatpuffer oder in Wasser suspendiert, mit neutralisierter Histamin-dichlorhydratlösung versetzt und unter Durchleiten von Luft bei 38° gerührt werden. In Wasser ist die Spaltung nur $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ derjenigen in Phosphatpuffer. Dieser Nachteil wird durch den Vorteil aufgewogen, dass bei der Aufarbeitung auf die Spaltprodukte sehr viel kleinere Salzmengen eliminiert werden müssen. Man filtriert nach der Spaltung die Suspension durch ein dichtes Filter ab und hat im Filtrat eine Lösung der Spaltprodukte, in der neben anorganischen Salzen nur sehr wenig organische Substanzen enthalten sind (bei der Minuskontrolle sind die Ninhydrin- und Biuret-Reaktionen negativ). Wenn man die Histaminkonzentration richtig gewählt hat, so bleibt das über-

schüssige Histamin an der Fullererde, so dass das Filtrat keine Wirkung mehr auf den Meerschweinchendarm zeigt.

Das Fullererde-Adsorbat zeigt dieselbe Aktivitäts-Kurve wie das extrahierte Ferment: die Kurve besitzt bei $p_H = 7{,}0$ ein Optimum. Wenn man das Adsorbat in verschieden grossen Volumina suspendiert, so bleibt die Grösse der Spaltung annähernd konstant, ein Verhalten, das auch für die gewöhnliche Histaminase gilt.

Untersuchung der Reaktionsprodukte.

Dampft man im Vakuum die auf die eben erwähnte Weise erhaltene Lösung auf etwa $^1/_{20}$ ihres Volumens ein, und setzt man dazu Dinitro-phenylhydrazin (gesättigte Lösung in 2-n. HCl), so erhält man in einigen Sekunden einen dichten, orangeroten Niederschlag, der sich unter dem Mikroskop als aus gleichmässigen, zu Rosetten angeordneten Krystallen erweist.

(Alle Elementaranalysen wurden von Herrn Dr. *H. Roth*, Heidelberg, ausgeführt).

$C_{10}H_{11}O_7N_6$	Ber.	C 36,7	H 3,36	O 24,3	N 25,73%
	Gef.	„ 36,78	„ 3,41	„ 24,1	„ 25,67%

Ein Versuch, den Niederschlag aus Methyl- oder Äthylalkohol umzukrystallisieren, verschlechtert das Resultat beträchtlich. Bei längerem Erhitzen bei 105° verlieren die Krystalle Wasser:

$C_{10}H_{10}O_5N_6$	Ber.	C 40,8	H 3,2	O 27,2	N 28,5%
	Gef.	„ 40,94	„ 3,21	„ 27,34	„ 28,5%

Es ist also ein Körper von der Zusammensetzung $C_4H_6O_2N_2$ entstanden, mit dessen Konstitutionsaufklärung wir beschäftigt sind.

Es fiel sehr bald auf, dass in denjenigen Ansätzen, wo ein aktives Präparat mit Histamin bebrütet wurde, eine schwarzbraune Färbung entstand, deren Intensität etwa proportional der Grösse der Spaltung war. Dieser Farbstoff, der in einzelnen Fällen isoliert wurde, hat melaninähnlichen Charakter. Er löst sich in keinem organischen Lösungsmittel noch in Säure, wohl aber in konzentrierter Lauge. Dieses Pigment ist sicher kein reines Oxydations- und Polymerisationsprodukt des Histamins allein. Je reiner eine Spaltlösung ist (Fullererde-Adsorbat), desto geringer ist seine Bildung.

Es interessierte uns nun sehr, ob diese Melaninbildung in irgendeinem Zusammenhang mit der aus Dioxy-phenylalanin stehe[1]). Suspendiert man in Phosphatpuffer von $p_H = 7{,}0$, in dem 10 mg Dopa gelöst sind, reine Fullererde und leitet man bei 38° einen kräftigen Luftstrom hindurch, so entsteht eine tiefschwarze Farbe. Nimmt man statt reiner Fullererde Fullererde-Adsorbat + Histamin, so entsteht nur eine braune Farbe. Ein gleiches Resultat erhält man aus einem analogen Versuchspaar: aktiver Extrakt + Dopa wird unter den gleichen Bedingungen schwarz, setzt man Histamin dazu, so entsteht nur eine braune Farbe.

[1]) *B. Bloch*, Z. physiol. Ch. **98**, 226 (1916).

Diese Tatsachen verknüpfen vielleicht die Histaminase-Reaktion mit wichtigen klinischen Erscheinungen, die mit Pigment- oder Melaninbildung einhergehen. Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnt der von uns festgestellte Histaminasegehalt der menschlichen Nebennieren-Rinde Bedeutung. Das Auftreten einer braunen Farbe beim Abkochen der Ansätze mit Ascorbinsäure wurde schon erwähnt.

Wir verweisen in dieser Hinsicht auf eine eigentümliche Reaktion, die der eine von uns *(E.)* mit *A. von Segesser* untersuchte[1]). Wird nämlich Histidin, Histamin oder irgendein anderes Imidazol-Derivat bei Gegenwart von Ascorbinsäure mit Sauerstoff behandelt, so findet eine Spaltung des Imidazolringes statt. In der erwähnten Mitteilung wurde auch gezeigt, dass diese Imidazolring-Öffnung durch Gegenwart von Eisenionen katalytisch sehr stark beschleunigt wird. Zu ähnlichen Ergebnissen ist auch unabhängig von uns *P. Holtz*[2]) gelangt.

Experimenteller Teil.

Einwirkung von Nierenschnitten von Meerschweinchen auf Histamin.

Beim Schütteln von Nierenschnitten mit einer Histaminlösung verschwindet das Histamin.

Lösung I: 0,7 g Nierenschnitte in 10 cm³ Tyrodelösung.

Lösung II: dasselbe + 0,1 mg Histamin.

Beide Lösungen werden bei 37° unter Einleiten von Luft 4 Stunden lang geschüttelt und filtriert. Auswertung des Filtrats am Meerschweinchendarm.

Lösung I beeinflusst den Darm in keiner Weise, nach Auswaschen reagiert der Darm prompt auf Histamin.

Lösung II. Es ist kein Histamin mehr nachzuweisen. Auf Zusatz von Histamin reagiert der Darm sofort, er ist also nicht vergiftet worden.

Wiederholung der Auswertung an drei verschiedenen Darmstücken mit dem gleichen Resultat. Unter den geschilderten Umständen bauen also 0,7 g Nierenschnitte 0,1 mg Histamin ab.

Vergleich verschiedener Organe in bezug auf ihren Histaminasegehalt.

Es werden je 2 g der frischen Organe mit Quarzsand verrieben, mit 40 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 7{,}5$ 15 Minuten extrahiert, je 10 cm³ Filtrat mit 0,1 mg Histamin und 3 Tropfen Toluol versetzt. Einleiten von Luft bei 38°.

Auswertung: 1) Ratte: Leber und Niere keine Verminderung des Histamins nach 24 Stunden.

2) Meerschweinchen: Niere Histamin nach 8 Stunden verschwunden.

[1]) Bioch. Z. **290**, 370 (1937).

[2]) *P. Holtz, G. Triem*, Naturwiss. **25**, 251 (1937).

3) Schwein: Niere nach 1½ Stunden kein Histamin mehr nachweisbar. Leber nach 16 Stunden noch kein Histamin abgebaut.

4) Rind: Niere und Leber nach 2 Stunden alles Histamin abgebaut.

Die Wirkung von Kohlenoxyd.

0,05 g Nierenpulver werden in 40 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 unter Durchleiten von Luft und bei Zusatz von Toluol extrahiert. Zu je 10 cm³ Filtrat wird 0,1 mg Histamin gegeben. Durch die eine Probe wird bei Dunkelheit ein Gemisch von 40% Kohlenoxyd und 60% Sauerstoff eingeleitet, durch die andere Luft. In beiden Proben ist nach 2 Stunden kein Histamin mehr nachweisbar.

Einfluss von Manganionen und Eisenionen.

25 g Nierentrockenpulver werden mit 500 cm³ 5-proz. Natriumchloridlösung eine Stunde bei 38° unter starkem Rühren extrahiert. Zu je 10 cm³ Filtrat werden 15 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 und 1 cm³ Toluol hinzugegeben. 24 Stunden bei 38°, Einleiten von Luft.

	0,1-m. Histaminlösung cm³	$MnSO_4$ 0,005-m. cm³	Verbrauch cm³ H_2SO_4 (0,02-n.)	Differenz
1	1	—	2,79	
2	—	—	0,39	2,40
3	3	0,3	2,48	
4	—	0,3	0,52	1,96

Die Probe mit Mangansulfat hat also weniger Ammoniak gebildet. Derselbe Extrakt zu je 10 cm³ Filtrat 15 cm³, 5-proz. Natriumchloridlösung + 1 cm³ Toluol, wie oben.

	0,1m-. Histaminlösung cm³	$FeCl_3$ 0,025-m. cm³	Verbrauch cm³ H_2SO_4 (0,02-n.)	Differenz
1	1	—	1,40	
2	—	—	0,50	0,90
3	1	1,0	1,20	
4	—	1,0	0,55	0,65

Die Molarität der Eisenchloridlösung ist 0,001-m, die sich als besonders günstig für die Abbauversuche von Histamin und Histidin mit Ascorbinsäure und Eisen erwies nach *Edlbacher* und *A. von Segesser* (l. c.).

Ganz analog wie Manganionen und Eisenionen wirkten auch Magnesiumionen.

Einfluss von Cystein und Arsenik.

0,2 g Rinder-Nierenpulver werden in 50 cm³ Phosphatpuffer suspendiert und mit 0,5 mg Histamin versetzt. Zu einem gleichen Ansatz wird 0,05 g Cystein hinzugefügt. Es werden Proben nach 4, 5 und 22 Stunden entnommen und auf ihre Wirksamkeit auf den Meerschweinchendarm geprüft.

	Extrakt + Histamin	Extrakt + Histamin + Cystein
4 Std.	+—	+
5 Std.	—	+
22 Std.	—	+

Mc Henry und *Gavin* (l. c.) konstatieren bei einer Cysteinkonzentration von 0,015% (die unsrige beträgt 0,1%) keinen Einfluss.

Es werden je 0,5 g Schweinsnierenpulver in 25 cm³ Phosphatpuffer vom $p_H = 7{,}0$ suspendiert, 1 cm³ Toluol hinzugefügt und 8 resp. 16 Stunden bei 38° unter Einleiten von Luft bebrütet.

	Histamin mg	As_2O_3 mg	Verbrauch cm³ 0,02-n. H_2SO_4 8 Std.	16 Std.
1	—	—	1,70	2,50
2	18,4	—	2,75	4,45
3	—	5	1,65	2,25
4	18,4	5	2,55	4,35

Adsorption an Kaolin.

Es wird ein Phosphatpufferextrakt 20 Minuten mit Kaolin geschüttelt und in der Restlösung die noch vorhandene Histaminase bestimmt, das Kaolin 2 Stunden mit Glykokollpuffer $p_H = 9{,}3$ eluiert. Es wird der Gehalt der an Kaolin verbliebenen Histaminase durch Suspendierung in Phosphatpuffer und nach Umpufferung mit gesättigtem primären Kaliumphosphat der Histaminasegehalt des Eluats bestimmt. Die Proben wurden so ausgeführt, dass das Volumen und die Histaminmenge immer gleich gross waren und ebenfalls, soweit als möglich, die Fermentkonzentration. Alle Bestimmungen ebenso wie die Minuskontrollen werden doppelt ausgeführt. Die unten angegebenen Zahlen sind die Anzahl der verbrauchten cm³ 0,02-n. H_2SO_4, die auf den Gesamtansatz umgerechnet sind.

Extrakt	37
Restlösung nach Adsorption	20
Eluat	12
Restadsorbat	15

Die Elution beträgt 45%. Auch hier sieht man deutlich, dass bei der Behandlung eines Extrakts mit einem Adsorbens die Gesamtaktivität steigt.

Adsorption an Fullererde und Gewinnung grösserer Mengen von Spaltprodukten.

50 g Nierenpulver werden mit 1000 cm³ 5-proz. Natriumchloridlösung und 50 cm³ Toluol versetzt, 1 Stunde bei 38° gerührt und dann filtriert. Unverzüglich wird das Filtrat sukzessive mit 15 g Bleicherde, 40 und 20 g Fullererde je 15 Minuten auf der Maschine geschüttelt, zum Schluss abzentrifugiert und das Adsorbens in einem Liter Wasser suspendiert und über Nacht geschüttelt. Dann wird abzentrifugiert, nochmals in den Zentrifugengläsern die Fullererde in destilliertem Wasser suspendiert und abermals zentrifugiert. Dann wird das so gewaschene Adsorbat in drei Liter Wasser gegeben. Dazu werden 0,92 g Histamin-dichlorhydrat und 3 cm³ n. NaOH (zur Neutralisierung des Histamin-dichlorhydrats) und 100 cm³ Toluol hinzugefügt. Unter energischem Rühren wird durch die Suspension ein rascher Luftstrom eingeleitet und der Ansatz 48 Stunden bei 38° bebrütet. Dann wird durch ein dichtes Filter abfiltriert und die Lösung im Vakuum bei 60° Wasserbadtemperatur auf 50 cm³ eingeengt und filtriert. Die Farbe des Konzentrats ist ein reines Gelbrot.

Aktivitätskurve des Fullererde-Adsorbates.

10 cm³ Extrakt werden mit 10 cm³ Phosphatpuffer $p_H = 7{,}0$ versetzt und 10 Minuten mit 1 g Fullererde geschüttelt. Diese wird abzentrifugiert und in 30 cm³ Phosphatpuffer von verschiedenem p_H suspendiert und mit 1 cm³ 0,1-mol. Histaminlösung und 1 cm³ Toluol versetzt. Spaltungsdauer 24 Stunden.

p_H	Verbrauch cm³ 0,02-n. H_2SO_4	Verbrauch cm³ 0,02-n. H_2SO_4 Minuskontrolle
4,9	1,56	0,08
5,8	1,87	0,06
6,9	2,35	0,11
7,8	1,50	0,07
8,0	1,44	0,11

Gewinnung des melanin-ähnlichen Körpers.

Aktiver Extrakt wird mit Phosphatpuffer und Histamin unter Luftdurchleiten für 24 Stunden bebrütet, dann wird mit gesättigter Sodalösung stark alkalisch gemacht und ein kräftiger Luftstrom hindurchgeblasen. Nach eintägigem Stehen bildet sich ein schwarzer Niederschlag, der leicht abfiltriert werden kann.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, dass die enzymatische Histamin-Spaltung ein oxydativer Vorgang ist, bei dem ein Äquivalent Stickstoff in Form von Ammoniak in Freiheit gesetzt wird. Die Frage, ob dieses Stickstoff-Atom aus dem Kern stammt, ist auf Grund der analogen Modellversuche mit Ascorbinsäure und Eisenkatalyse wahrscheinlich im positiven Sinn zu beantworten, muss aber erst endgültig bewiesen werden. Auf Grund dieses Verhaltens muss das Enzym höchstwahrscheinlich als ein sogenanntes Häminferment angesehen werden. Bei der Histaminspaltung bildet sich ein Pigment. Ausserdem ist es gelungen, ein Keton in Form eines wohlcharakterisierten Dinitro-phenylhydrazons zu isolieren, dessen Konstitutionsermittlung im Gange ist.

Curriculum vitae.

Ich — *Ernst Albert Zeller* — wurde als viertes von neun Geschwistern am 9. November 1907 in Basel geboren. Meine Eltern — Emil und Emma Zeller-Bannier — sind Bürger von Basel. Mein Vater ist Beamter des Gas- und Wasserwerkes der Stadt.

Ich besuchte die Untere und Obere Realschule und verliess sie im Herbst 1926 mit dem Maturitätszeugnis. Ein halbes Jahr später holte ich die Reifeprüfung für Latein nach. In der festgelegten Minimalzeit von elf Semestern beendete ich das Medizinstudium mit dem Staatsexamen im Frühjahr 1932. Im Herbst darauf begann ich Chemie zu studieren, nachdem ich mich schon während meines Medizinstudiums mit Mathematik (Proff. Mohrmann, Buchner), Chemie (Prof. Erlenmeyer) und physiologischer Chemie (Arbeiten in der physiologisch-chemischen Anstalt bei Prof. Spiro) beschäftigt hatte. Im Frühjahr 1933 promovierte ich mit der unter der Leitung von Dr. Leuthardt ausgeführten Arbeit „Über das Potential und die sogenannte irreziproke Permeabilität der Froschhaut" zum Doktor der Medizin.

Ich durchlief den üblichen Lehrgang des anorganischen und organischen Laboratoriums und hörte Vorlesungen der Herren Proff. Fichter, Rupe, Ruggli, Fischer und Erlenmeyer. Als Nebenfächer wählte ich Physik und Zoologie. Ich besuchte die vorgeschriebenen Praktika und Spezialvorlesungen der Herren Proff. Portmann und Wehrli, Dr. Geigy und Hediger. Im Frühjahr und Herbst des Jahres 1935 bestand ich die Nebenfach-Examina. Die entsprechenden Hauptvorlesungen der drei Fächer Chemie, Physik und Zoologie hatte ich seinerzeit als propaedeutischer Mediziner belegt. Weiterhin besuchte ich Vorlesungen über theoretische Physik (Prof. Mathies) und Philosophie (Prof. Schmalenbach). Seit dem Frühjahr 1935 bin ich Assistent von Herrn Prof. Edlbacher, unter dessen Leitung ich meine chemische Doktorarbeit ausführte. Seit dem Weggang von P.-D. Dr. Leuthardt rückte ich an dessen Stelle als erster Assistent der physiolog.-chemischen Anstalt und als technischer Leiter der staatlichen Vitamin-Prüfungsstelle nach.

Ich bin der mathem.-naturwissenschaftlichen Fakultät sehr zu Dank verpflichtet, dass sie mir ein Nebenfach erliess und erlaubte,

meine Dissertation in der physiologisch-chemischen Anstalt auszuarbeiten. Auch die einzelnen Herren Dozenten sind mir durchwegs aufs freundlichste entgegengekommen, indem sie mir z. B. erlaubten, einen Teil der Praktika während der Semesterferien zu absolvieren, so dass es mir in relativ kurzer Zeit gelungen ist, das Chemiestudium zu vollenden. Ganz besondern Dank schulde ich Herrn Prof. Edlbacher, der mich in sein Fach und in seine speziellen Arbeitsgebiete einführte, und mir überdies in jeder wünschbaren Weise Förderung zuteil werden liess.

Im Herbst 1934 verheiratete ich mich mit Fräulein Agnes Preiswerk von Basel.